

# SDHA es requerido por el complejo II para mantener la actividad mitocondrial y regular la migración en células AGS



José Rivas<sup>1</sup>, Andrés Mansilla<sup>1</sup>, Mónica Cáceres<sup>2,3</sup>, Fabian Jaña<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Aysén, Coyhaique, <sup>2</sup>Programa de biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, <sup>3</sup>Millennium Nucleus of Ions Channels-Associated Diseases (MiNICAD)

## Introducción

El cáncer es una de las enfermedades más estudiadas a nivel mundial, esto debido al alto porcentaje de la población que vive con ella. Además, en la región de Aysén el cáncer gástrico es la principal causa de muerte. Se ha demostrado que las células cancerosas tienen un fenotipo bioenergético especial que fue descrito por Otto Warburg en 1956. La mitocondria tiene un rol central en la fisiología celular como en su supervivencia, tomando un rol en la síntesis de metabolitos como en la regulación de vías involucradas en la muerte celular y su bioenergética. El ciclo del ácido tricarboxílico (ETC) y OXPHOS son procesos metabólicos esenciales que ocurren a nivel mitocondrial. ETC forma parte de OXPHOS y está compuesto por 4 complejos: Complejo I, Complejo II, Complejo III y complejo IV. Las subunidades de los complejos I, III y IV se encuentran codificados por genomas mitocondriales como por genomas del núcleo, mientras que el Complejo II (SDH) sus subunidades se encuentran codificados solo por el DNA nuclear. Además, recientemente, se ha demostrado que el Complejo II actúa como un supresor de tumores, donde estudios indican que el complejo II puede ser un nuevo blanco terapéutico a través de la generación de ROS, aunque estos estudios no indican una estrecha relación del Complejo II con una regulación de la apoptosis.

## Metodología

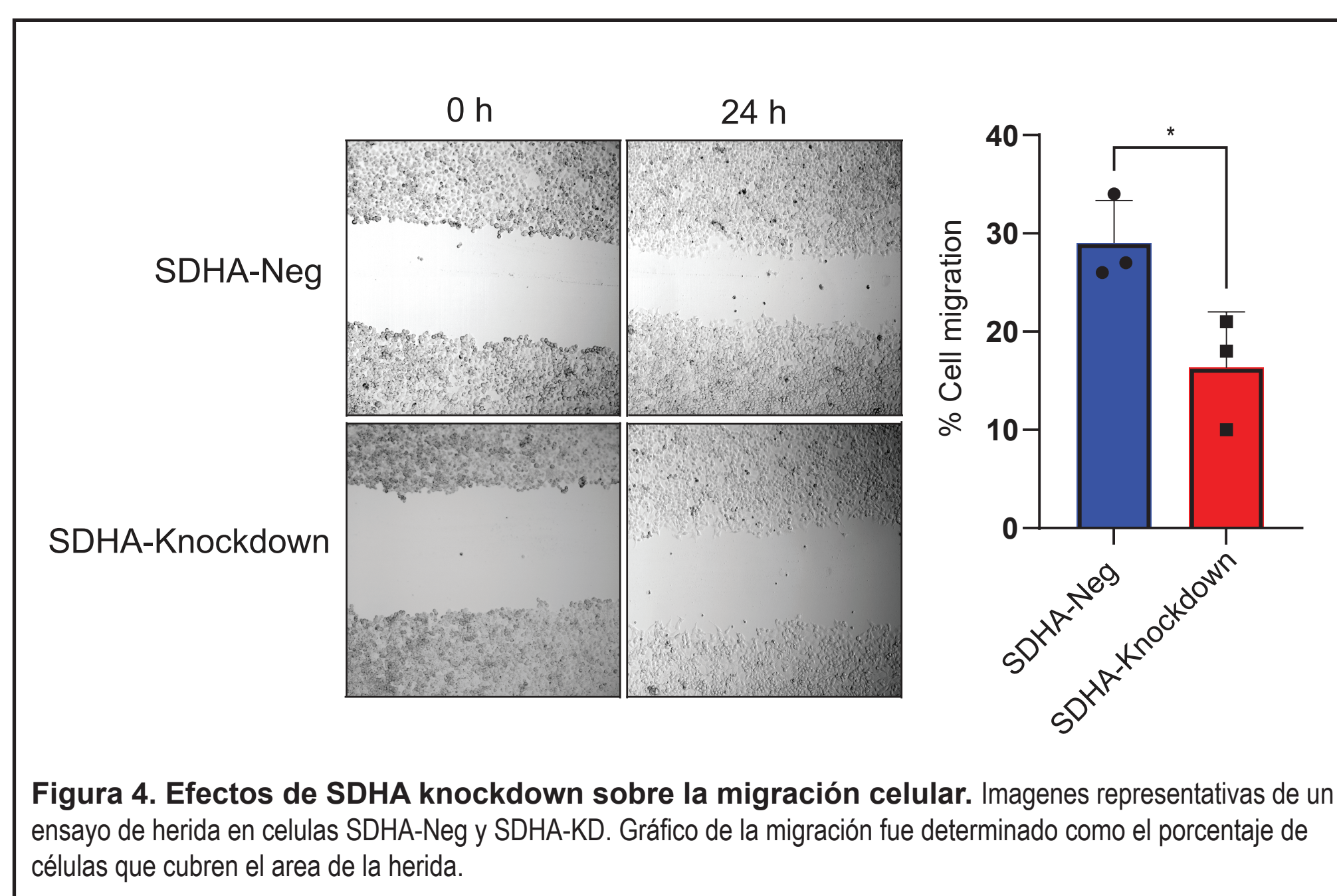
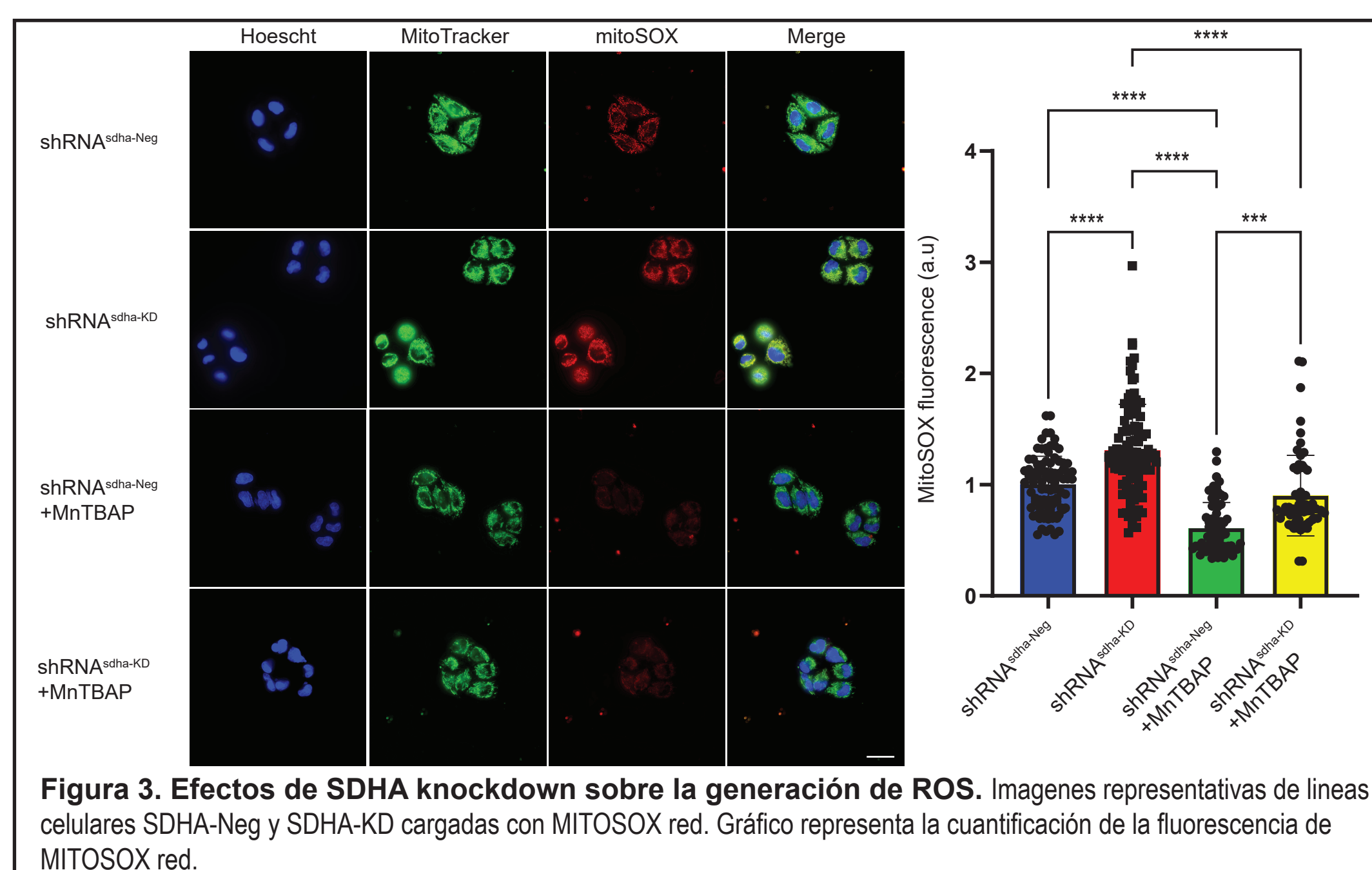
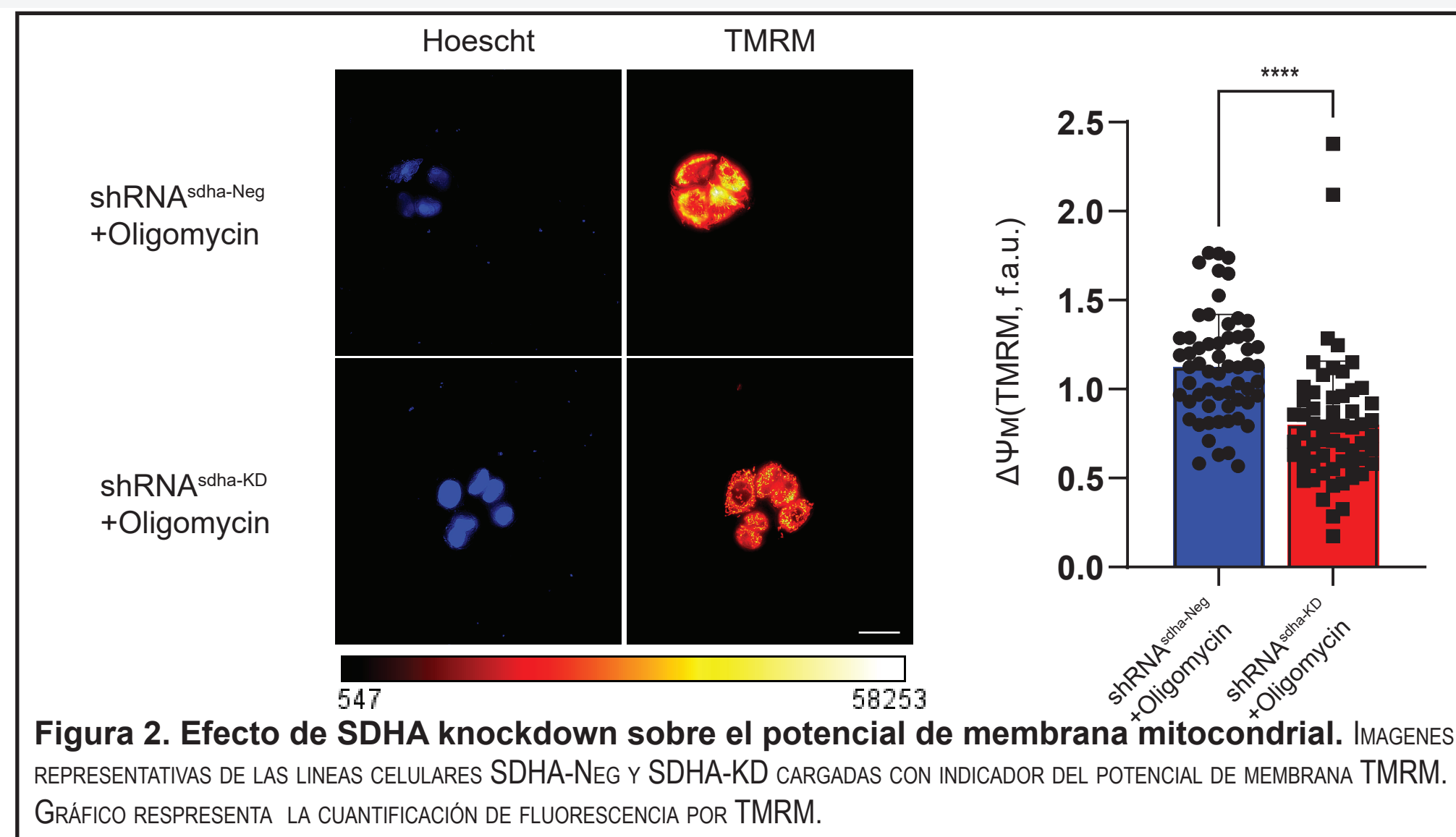
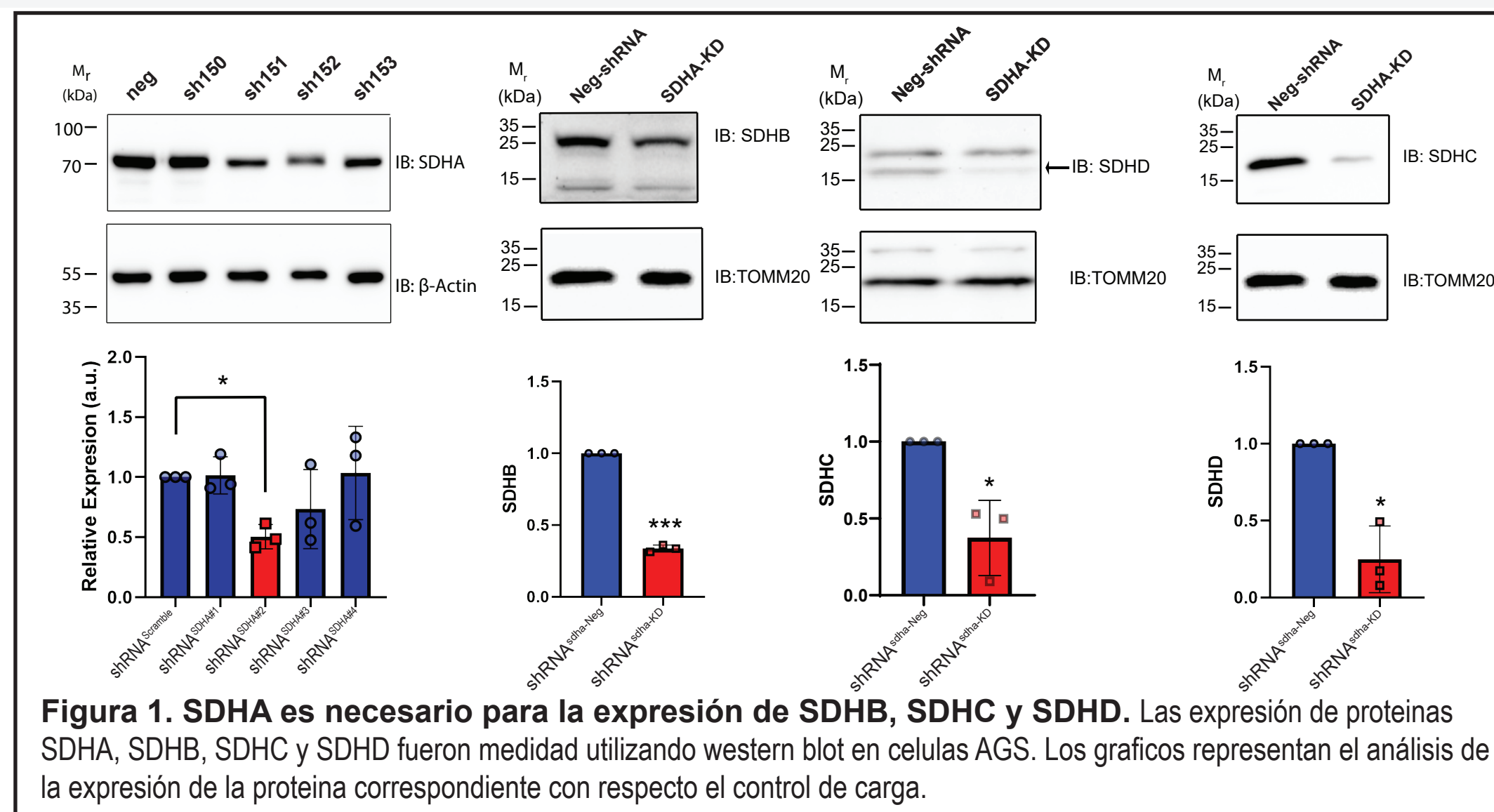
**Western Blot.** Los extractos celulares fueron incubados con amortiguador RIPA 1X suplementado con inhibidor de proteasas y fosatasas. Concentraciones iguales del extracto de proteínas fueron separados en SDS-PAGE y transferidos a membranas de PVDF.

**TMRM.** Las células fueron incubadas con Tetrametilrodamina éster metílico a 5 nM (TMRM) por 30 minutos a 37 °C y 5% CO<sub>2</sub>. Para tñir núcleo se usó Hoescht 33342. Las imágenes fueron adquiridas usando el microscopio Leica. Fluorescencia fue cuantificada usando el software ImageJ.

**Mitosox.** El superóxido mitocondrial se midió utilizando Mitosox Red. Brevemente, las células se sembraron en cubreobjetos de 25 mm y luego se incubaron con 5 μM de Mitosox Red por 30 minutos. Se montaron los cubreobjetos y posteriormente se analizaron las imágenes en el microscopio Leica a una longitud de onda de 561 nm. La fluorescencia fue cuantificada usando el software ImageJ.

**Ensayo de herida.** Las células fueron sembradas en una placa de 6 pocillos con una densidad de 1x10<sup>6</sup> células por pocillo. Se procedió a realizar la herida. Se lavaron con PBS y se incubaron con medio DMEM al 1% de FBS. Veinticuatro horas después se obtuvieron imágenes de múltiples locaciones al azar utilizando el microscopio Leica. Las imágenes fueron medidas y analizadas usando el software ImageJ.

## Resultados



## Conclusión

La subunidad A del complejo II (SDHA) tiene una participación en procesos mitocondriales como el potencial mitocondrial y la formación de ROS, donde se logró observar que al disminuir la expresión de SDHA en células AGS el potencial mitocondrial disminuye mientras que la formación de ROS aumenta, lo que indica que SDHA es necesario para el correcto funcionamiento de procesos en los cuales participa la mitocondria. Se conoce que la mitocondria también tiene una participación en procesos celulares como es la migración. Se logró observar que SDHA-KD disminuye el proceso migratorio en células de cáncer, lo que se condice con una disminución de la actividad mitocondrial relacionada con la disminución de la expresión de la subunidad A.

## Bibliografía

- Karnowska, A., et al., A Eukaryote without a Mitochondrial Organelle. *Current Biology*, 2016. 26(10): p. 1274-1284.
- Busch, K.B., et al., Dynamics of bioenergetic microcompartments. *Biological Chemistry*, 2013. 394(2): p. 163-188.
- Hawkins, B.J., et al., Mitochondrial complex II prevents hypoxic but not calcium- and proapoptotic Bcl-2 protein-induced mitochondrial membrane potential loss. *J Biol Chem*, 2010. 285(34): p. 26494-505.
- Wang, L., et al., A novel agent exerts antitumor activity in breast cancer cells by targeting mitochondrial complex II. *Oncotarget*, 2016. 7(22).